Journal of Iranian Plant Protection Research

https://jpp.um.ac.ir

Research Article
Vol. 36, No. 3, Fall 2022, p. 313-325

Effect of *Trichoderma harizianum* Strain T22 on Induced Resistance of Tomato to *Helicoverpa armigera* Hübner

N. Badakhshan[1], S.M. Mansouri[2*], A. Habibi[3], Sh. Shakeri[4], B. Naseri[5]

Received: 16-04-2022
Revised: 25-04-2022
Accepted: 25-05-2022
Available Online: 08-12-2022

How to cite this article:
Badakhshan, N., Mansouri, S.M., Habibi, A., Naseri, B., & Shakeri, S. (2022). Effect of *Trichoderma harizianum* Strain T22 on Induced Resistance of Tomato to *Helicoverpa armigera* Hübner. *Journal of Iranian Plant Protection Research 36*(3): 313-325. (In Persian with English abstract)
DOI: 10.22067/JPP.2022.76074.1086

Introduction

Beneficial soil microorganisms such as plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR), mycorrhiza fungi, endophytic fungi and plant growth-promoting fungi can increase plant growth and their defense against some plant diseases and insect pests. Some species of *Trichoderma* spp. known as plant growth stimulants are found in many soils where crops are grown, especially around the rhizosphere. These species increase growth rate, nutrient uptake, plant efficiency and defense ability against herbivorous insects. In this regard, a very important approach is the use of microorganisms that enhance plant growth, which achieves optimal plant performance and reduces pest damage and environmental pollution.

Materials and Methods

In this study, the seeds of Falat cultivar were inoculated with spores of *T. harizianum* strainT22 (30 mg of 5 mg suspension of fungal spores were inoculated next to the plant), which they were cultivated under greenhouse conditions (25 ±5 °C, 55±5% RH 16: 8 h, L: D). First to fourth instar larvae of *Helicoverpa armigera* were placed on the leaf and fourth to sixth instar larvae were placed on the fruit of treated or untreated plants (as control). Then the relative growth rate of larvae, larval developmental time, percentage of larval mortality and total fecundity and fertility of adult female were recorded. Also, some growth and biochemical parameters of the experimental plants were measured.

Results and Discussion

The results showed that the larval developmental time and percentage of larval mortality were significantly higher than these parameters in insects raised on control plants and in contrast to, the relative larval growth rate and total fecundity and fertility of female insects in treated plants was significantly less than these indicators in insects fed to control plants. Amounts of some micro- and macro- elements, number of leaves, root volume, fruit weight per plant (yield), the amount activities of polyphenol oxidase and catalase enzymes as well as amounts of proline and hydrogen peroxide in plants treated with fungi were significantly more than these parameters on control plants. Stimulation of the plant's defense system by the use of this fungi, which has resulted in the production of more plant defense products, proline and hydrogen peroxide. This fungus stimulates the plants defense system in the direction of different metabolic pathways of different defense materials. Since the

1, 2 and 3- M.Sc. Student and Assistant Professors in Department of Biodiversity, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: m.mansouri@kgut.ac.ir)
4- Professor in Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture and Natural Rescore University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
5- Associate Professor in Department of Biodiversity, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran

production of proline and hydrogen peroxide is the same in the metabolic pathway, the production of these two defense molecules in treated plants has increased significantly. Comparing the amounts of these two molecules in plants that have not been fed by larvae is also quite clear that the presence of this fungus has stimulated the plant's defense system. In plants fed on pest larvae, these values have increased significantly due to damage to the fruit tissue of the tomato plant. The production of proline and hydrogen peroxide are in the same metabolic pathway, the production of these two defense molecules in treated plants has increased significantly. Comparing the amounts of these two molecules in plants that have not been fed by the larvae of the pest is also quite clear that the presence of this fungus has stimulated the plant's defense system. In plants fed on pest larvae, these values have increased significantly due to damage to the fruit tissue of the tomato plant

Conclusion

This study is the first evidence that indicated positively affected by *T. harizianum* strain T22 on the strength of tomato plant response in both aspects of higher nutrient uptake and increase its vegetative and reproductive growth, as well as increasing the function of the plants defense system in response to feeding of fruits of tomato. From the results of this study, it is inferred that the use of biological product of *T. harizianum* T22 helped to absorb more nutrients to the plant and stimulated and strengthened the plant's defense system against the attack of tomato fruit worm. The results of this study show that the use of beneficial soil microorganisms to strengthen plant defenses in terms of crop protection is a promising strategy to control an important group of pests such as vegetarians to reduce the use of pesticides. Finally, the results of this study proved that inductive resistance can be used as an important tool for pest management to reduce the use of chemical insecticides.

Keywords: Biological parameters, Biological products, Induced resistance, Secondary metabolites, Tomato fruit borer

نشریه پژوهش‌های حفاظت گیاهان ایران
https://jpp.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۶، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۱، ص. ۳۲۵-۳۱۳

تاثیر قارچ *Trichoderma harizianum* T22 بر مقاومت القایی گیاه گوجه‌فرنگی نسبت به *Helicoverpa armigera* Hübner

نجمه بدخشان[۱]- سید مظفر منصوری[۲*]- آزاده حبیبی[۳]- بهرام ناصری[۴]- شهریار شاکری[۵]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۱/۲۷
تاریخ پذیرش:۱۴۰۱/۰۳/۰۴

چکیده

در این پژوهش بذور گوجه‌فرنگی رقم فلات با اسپورهای قارچ سویه *Trichoderma harizianum* T22 به میزان ۳۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون پنج گرم اسپور تجاری قارچ در لیتر در کنار بوته تلقیح شدند و در شرایط گلخانه‌ای (۵±۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۱۰± ۵۵ درصد و دوره روشنایی ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) کشت شدند. لاروهای سن اول تا سوم کرم میوه گوجه‌فرنگی، *Helicoverpa armigera*، روی برگ و لاروهای سن چهام تا ششم روی میوه گیاهان تیمار شده و شاهد قرار داده شدند. سپس نرخ رشد نسبی لارو، طول مدت نشوونمای لاروی، درصد مرگ و میر لاروها، باروری و زادآوری حشرات ماده بالغ ثبت شد. همچنین برخی از پارامترهای رشدی و بیوشیمیایی گیاه اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که طول دوره‌ی لاروی و درصد مرگ و میر لاروها روی گیاهان تیمارشده به طور معنی‌داری بیشتر از گیاهان شاهد بود. از سوی دیگر، نرخ رشد نسبی لاروی، باروری و زادآوری حشرات ماده پرورش‌یافته روی گیاهان تیمارشده به طور معنی‌داری کمتر از شاهد بود. تعداد برگ، حجم ریشه، وزن میوه در بوته (عملکرد) و همچنین مقادیر برخی عناصر کم مصرف و پرمصرف گیاه در گیاهان تیمار شده با قارچ به طور معنی‌داری بیشتر از گیاهان شاهد بود. همچنین در گیاهان تیمار شده با قارچ تریکودرما فعالیت آنزیم‌های پلی فنل اکسیداز و کاتالاز و مقادیر پرولین و پراکسید هیدروژن گیاه به طور معنی‌داری نسبت به گیاهان شاهد افزایش یافت. از نتایج این تحقیق اینگونه استنباط می‌شود که استفاده از فرآورده زیستی *T. harizianum* T22 به جذب بیشتر مواد مغذی به گیاه کمک کرده و باعث تحریک و تقویت سیستم دفاعی گیاه در برابر حمله کرم میوه گوجه‌فرنگی شد. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که استفاده از میکروب‌های مفید خاک برای تقویت دفاع گیاه در جهت حفاظت از محصول، یک رهیافت امیدوارکننده برای کنترل آفات به منظور کاهش کاربرد آفت‌کش‌ها می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: القای مقاومت، پارامترهای زیستی، ترکیبات دفاعی گیاه، فرآورده‌های زیستی، کرم میوه گوجه‌فرنگی

مقدمه

کرم میوه گوجه‌فرنگی، *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae)، با طیف گسترده‌ای از گیاهان میزبان، یکی از مخرب‌ترین آفات گوجه‌فرنگی در جهان است (Smith *et al*., 1992; Mazzi and Dorn, 2012). گیاهان میزبان آن از طیف وسیعی از گونه‌های گیاهی از جمله پنبه، ذرت، گوجه‌فرنگی، نخود، سورگوم، آفتابگردان، لوبیا، پسته و بادام زمینی هستند. لاروهای سنین اولیه *H. armigera* به طور عمده از پارانشیم برگ‌های میزبان و لاروهای سنین بالاتر از اندام های زایشی گیاهان به ویژه میوه تغذیه نموده و عملکرد محصول را به شدت کاهش می‌دهند (Fitt *et al*., 1986; *Zaluki et al*., 1986). موجودات زنده مفید موجود در

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیاران گروه تنوع زیستی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته،کرمان، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: m.mansouri@kgut.ac.ir)
۴- استاد گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
۵- دانشیار گروه بیوتکنولوژی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته،کرمان، ایران
DOI: 10.22067/JPP.2022.76074.1086

خاک مانند ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه، قارچهای هم زیست با ریشه، قارچهای اندوفیت (درون‌زی) و قارچهای محرک رشد گیاه می‌توانند رشد گیاهان و توانایی دفاعی آن‌ها را در برابر برخی بیماری‌ها و آفات گیاهخوار افزایش دهند (Harman *et al.*, 2004 ; War *et al.*, 2012). برخی از گونه‌های تریکودرما، که به عنوان محرک رشد گیاه شناخته می‌شوند، در بسیاری از خاک‌های زراعی به ویژه در اطراف ریزوسفر گیاهان یافت می‌شوند (Vinalet *al.*, 2008). این گونه‌ها، سرعت رشد، جذب مواد مغذی، کارایی و توانایی دفاعی گیاه را در برابرحشرات گیاهخوار افزایش می‌دهند (War *et al.*, 2012). استفاده از روش‌های مختلف تلقیح و نوع ابزار مورد استفاده در کنار انتخاب بهترین مرحله رشدی گیاه که در آن استقرار قارچ درون‌زی با راندمان بالاتری انجام می‌شود، نقش مهمی در موفقیت استقرار قارچ در گیاه دارد (Tefera and Vidal, 2009). در پژوهش‌های متعددی اثر مثبت گونه‌های تریکودرما بر رشد گیاهان گوجه‌فرنگی، فلفل، نخود، خیار، بادمجان، ترب کوهی و کاهو گزارش شده است (Ousley *et al.*, 1994Windham and Baker, 1986 ;). به طور نمونه در مطالعه‌ای گزارش شده است که استفاده از سویه *Trichoderma atroviride* P1 و *Trichoderma harzianum*T22 روی گوجه‌فرنگی به طور قابل توجهی باعث افزایش طول گیاه، تعداد برگ، میوه، وزن ریشه و اندام هوایی شده است (Vinal *et al.*, 2008). تغذیه اندام‌های مختلف گیاهی بوسیله حشرات سبب فعال شدن مسیر متابولیکی می‌شود که منجر به بیوسنتز اسید جاسمونیک و در نهایت منجر به تولید مهارکننده‌های پروتئیناز، پلی فنل اکسیدازها، متابولیت‌های ثانویه گیاهی (مانند گلوکوزینولات‌ها، آلکالوئیدها، ترپنوئیدها) و جذب پارازیتوئیدهای حشرات آفت می‌شود (Zhang *et al.*, 2022War *et* ;*al.*, 2012 ;). مطالعات اخیر نشان داده است که گونه‌های جنس *Trichoderma* می‌توانند از طریق تحریک مسیرهای سیگنالینگ هورمون‌های گیاهی و مواد دفاعی در گیاهان آسیب‌دیده مانند ترکیبات فنلی، پراکسیداز هیدروژن و اسیدهای آمینه مقاومت سیستمیک را در گیاه القا کند (Zhang *et al.*, 2022Kessler and Baldwin, ;2001 ;). این مولکول ها می‌توانند از طریق اختلالات فیزیولوژیکی، مهار هضم و جذب، دفع حشرات یا جذب دشمنان طبیعی آن‌ها به حشرات آسیب برسانند (Dicke and Hilker, 2003). مطالعات مختلف نشان داده است که برخی از گونه‌های جنس تریکودرما اثرات منفی بر پارامترهای زیستی حشرات داشته است. به طور مثال، گیاهان تیمار-شده با قارچ *T. harzianum* طول دوره نشوونمای پوره‌های شته سبز هلو، *Myzus persicae* (Sulzer)، را افزایش و زادآوری بالغین و توانایی آنها در هضم غذا را کاهش دادند (Fitt *et al.*, 1986). همچنین استفاده از این گونه قارچ باعث مرگ‌ومیر بالایی در جمعیت سن بذر خوار، *Oncopeltus fasciatus* (Dallas)، می‌شود (Santamarina-Fojo *et al.*, 2000). استفاده از قارچ *T. harzianum* باعث کاهش قابل توجهی در بقاء و تولیدمثل سوسک کاج، *Dendroctonus rufipennis* (Kirby)، شد (Cardoza *et al.*, 2006). در مطالعه دیگری مشخص شده است که قارچ *T. harzianum* روی نشوونما پوره‌های سوسری آمریکایی، *Periplaneta Americana* (L. 1758) نیز اثر منفی داشته است (Abdul-Wahid and Elbanna, 2012). با این حال، اطلاعاتی در مورد تاثیر گیاه گوجه‌فرنگی تیمارشده با سویه *T. harzianum* T22 بر آفت مهم آن، *H. armigera* در دسترس نیست.

گیاهان از طریق سازوکارهای مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی مختلف به حمله گیاهخوار واکنش نشان می‌دهند. مواد دفاعی بیوشیمیایی می‌توانند در پاسخ به آسیب‌های واردشده به گیاه تولید شوند و بر تغذیه و نشوونما و بقاء حشرات گیاهخوار تأثیر بگذارند (War *et al.*, 2012). پراکسید هیدروژن (H_2O_2) می‌تواند شروع یک سلسله از واکنش‌های فیزیولوژیکی باشد که منجر به تولید مواد اصلی دفاعی و محافظت از گیاهان در برابر آسیب‌های گیاهخواران می‌شود (Bi and Felton, 1995). تجمع پراکسید هیدروژن سبب تحریک تولید هورمون‌های دفاعی گیاه شامل جاسمونیک اسید و سالسیلیک اسید در گیاه گوجه‌فرنگی می‌شود (Zhang *et al.*, 2022). همچنین رابطه مشخصی بین تجمع پرولین و سازگاری با تنش‌های مختلف توسط برخی محققین ثبت شده است (Amini *et al.*, 2015). آنزیم‌های اکسیداسیون مانند پلی‌فنل اکسیداز (PPO) و کاتالاز (CAT)، تحت تنش‌های مختلف زیستی و غیر زیستی از جمله خسارت حشرات گیاهخوار سبب ایجاد مقاومت القایی گیاه در برابر چنین تنش‌هایی می‌شوند (Gull *et al.*, 2019).

اگرچه استفاده از حشره‌کش‌های شیمیایی از روش‌های معمول برای کنترل کرم میوه گوجه‌فرنگی است، اما به دلیل خطرات نامطلوب زیست محیطی و بهداشتی ناشی از استفاده از این ترکیبات، تلاش‌هایی برای یافتن جایگزین‌های مناسب و مطمئن‌تر صورت گرفته است. در این راستا یک رویکرد بسیار مهم استفاده از موجودات زنده تقویت‌کننده رشد گیاه است که سبب دستیابی به عملکرد مطلوب گیاه و کاهش آسیب آفات و آلودگی محیطی می‌شوند. با توجه به اهمیت اقتصادی گیاه گوجه‌فرنگی، هدف مطالعه حاضر، بررسی مقاومت القایی گیاه گوجه‌فرنگی تیمارشده با قارچ تریکودرما سویه *T. harzianum* T22 نسبت به تغذیه کرم میوه گوجه‌فرنگی با مطالعه‌ی پارامترهای زیستی حشره، شاخص‌های رشدی و بیوشیمیایی گیاهان تیمار شده با این قارچ بود.

مواد و روش‌ها

گیاهان آزمایشی

بذر گوجه‌فرنگی (رقم فلات) از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه

نهال و بذر کرج (استان البرز، ایران) تهیه شد. ابتدا بذرها به مدت ۲۴ ساعت در محلول جوانه‌زنی به نام تجاری AKTIVATOR خیسانده شدند. برای پرورش گوجه‌فرنگی از گلدان‌های پلاستیکی (قطر ۱۴سانتی‌متر، عمق ۱۸ سانتی‌متر)حاوی ماسه و مخلوطی از کوکوپیت و پرلیت به نسبت ۱به۱ استفاده شد. تعداد چهار بذر گوجه‌فرنگی در عمق نیم سانتی‌متری از سطح خاک کاشته شدند. گیاهان در شرایط گلخانه‌ای با دمای ۵±۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۵۵ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی پرورش داده شدند. آبیاری بر اساس نیاز گیاهان انجام شد. پس از رشد اولیه گیاهان، تعداد یک بوته در هر گلدان نگهداری و سایر بوته‌ها حذف شدند.

پرورش کرم میوه گوجه‌فرنگی

برای پرورش کرم میوه گوجه‌فرنگی، تعدادی میوه گوجه‌فرنگی آلوده به لارو این آفت از مزارع اطراف شهر ماهان (شهرستان کرمان) جمع‌آوری شدند و در ظروف پلاستیکی با درب توری به آزمایشگاه منتقل شدند. لاروها در اتاقک رشد Binder در دمای ۲±۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی روی برگ جدا شده (سن اول تا سوم) و میوه (سن چهارم تا ششم) گوجه‌فرنگی به مدت دو نسل پرورش داده شدند.

طراحی آزمایش

گیاهانی که صرفاً با کودهای شیمیایی (نیتروژن، فسفر و پتاسیم) تیمار شده بودند به عنوان گیاهان شاهد و گیاهان تیمار شده با کودهای شیمیایی ذکر شده در بالا همراه باکود زیستی (سوسپانسیون اسپور *T. harzianum* سویه T22) به عنوان تیمار در نظر گرفته شدند. پنج گرم از اسپورهای قارچ با نام تجاری TRIANUM-P (ساخت شرکت Koppert کشور هلند) در هر لیتر آب تهیه شد و همزمان با کاشت بذرهای گوجه‌فرنگی مقدار ۳۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون تهیه شده در اطراف محل کاشت بذرها استفاده شد (هر میلی‌لیتر محلول حاوی $۱۰^{۷}$ کنیدی). پس از شش برگی‌شدن بوته‌ها، کودهای شیمیایی سه مرتبه با فاصله دو هفته در مراحل رشد رویشی گیاه برای هر دو گروه گیاهان (تیمار و شاهد) استفاده شد. در مجموع تعداد ۸۰ گلدان گوجه‌فرنگی برای انجام آزمایش‌ها در نظر گرفته شد. گیاهان آزمایشی به دو گروه گیاهان تیمارشده با قارچ و گیاهان تیمار-نشده با قارچ (شاهد) به دو دسته تقسیم‌بندی شدند (هر گروه ۴۰ گلدان). سپس روی نصف گیاهان تیمار شده (۲۰ عدد) و تیمار نشده (۲۰ عدد) لارو آفت قرار داده شد و روی گروه دیگر شامل گیاهان تیمار شده و نشده لارو قرار داده نشد.

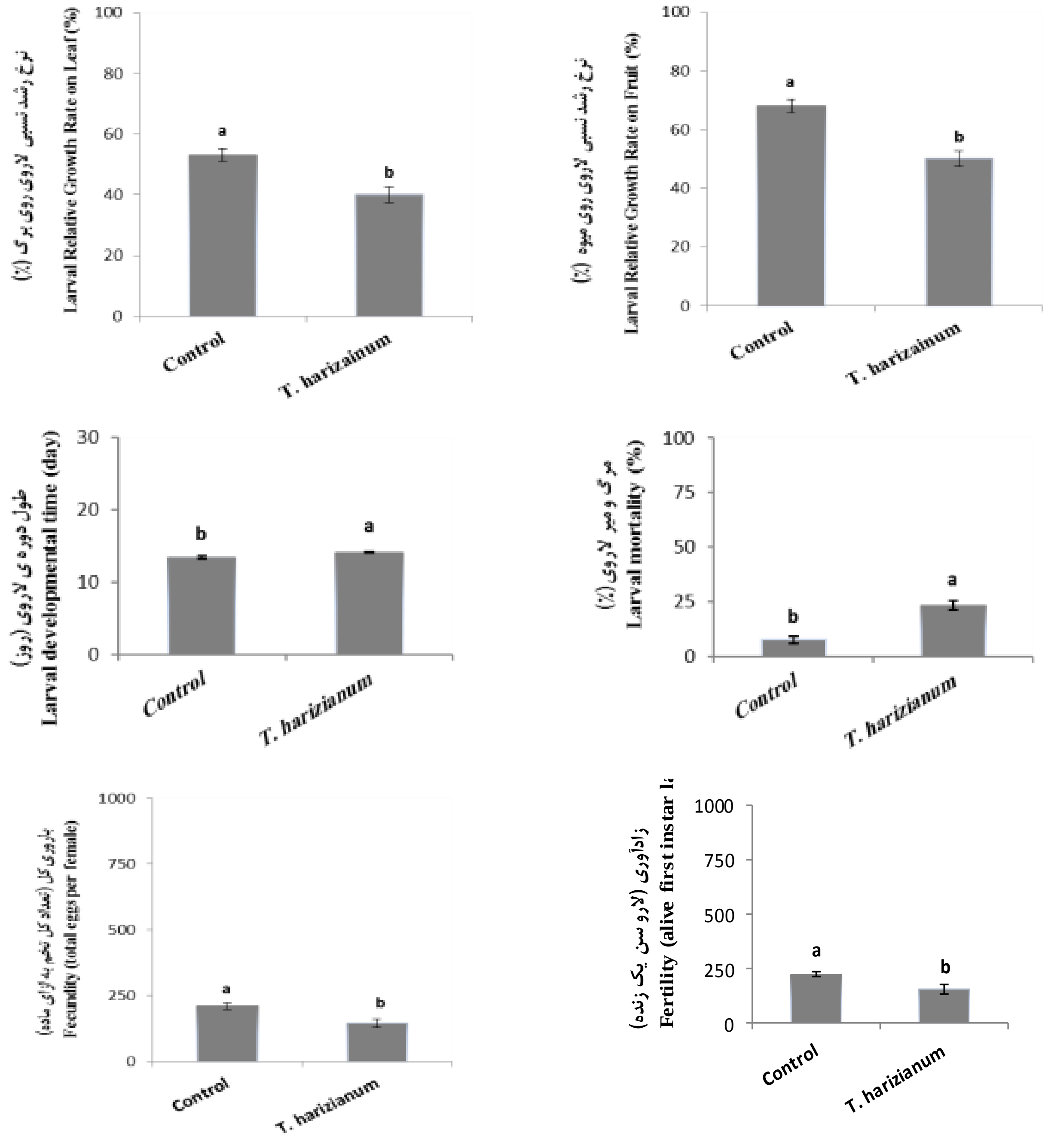
از لاروهای سن اول حاصل از تفریخ تخم‌های به‌دست‌آمده از نسل دوم در ظروف پلاستیکی (۳×۷/۵×۹/۵ سانتی‌متر) حاوی برگ-های جدا شده گوجه‌فرنگی از گیاهان تیمار شده با قارچ و شاهد در اتاقک رشد قرار داده شدند و لاروها تا پایان سن سوم روی آن‌ها پرورش داده شدند. برگ‌ها به طور روزانه تعویض شدند. لاروهای سن چهارم روی بوته‌هایی که میوه‌های جوان (نارس) داشتند در قفس‌های شیشه‌ای (طول ۱۰۰ سانتی‌متر و عرض ۷۰ سانتی‌متر) در شرایط گلخانه‌ای قرار داده شدند. طول دوره‌ی لاروی و درصد مرگ‌ومیر لاروها روی همه گیاهان ثبت شد. پس از ظهور حشرات بالغ، یک جفت شب‌پره به هر یک از ظروف شیشه‌ای مخصوص جفت‌گیری (۲۰×۵ سانتی‌متر) با درب توری منتقل شدند. برای تغذیه شب‌پره‌ها از پنبه خیسانده شده در آب عسل ۱۰ درصد استفاده شد. سپس مجموع تخم‌های گذاشته‌شده به ازای هر ماده در گیاهان تیمار شده و شاهد ثبت شد.

برای ارزیابی نرخ رشد نسبی لارو، از فرمول ارائه شده توسط آلینک و همکاران (Alinc *et al*., 2021) استفاده شد. بدین صورت که به دلیل وزن بسیار کم لاروهای سن یک برای محاسبه این شاخص، لاروهای سن دوم توزین و به عنوان وزن اولیه لاروی در نظر گرفته شد. سپس میانگین وزن لاروهای سن چهارم (وزن انتهایی) منهای میانگین وزن لاروهای سن دوم (وزن ابتدایی) تقسیم بر میانگین وزن لاروهای سن دوم ضربدر ۱۰۰ به عنوان نرخ رشد نسبی محاسبه شد. برای ارزیابی این شاخص روی لاروهای پرورش-یافته روی میوه، از فرمول میانگین وزن لاروهای سن ششم منهای میانگین وزن لاروهای سن چهارم تقسیم بر میانگین وزن لاروهای سن چهارم ضربدر ۱۰۰ استفاده شد. وزن لاروها به وسیله ترازوی دیجیتال ژاپنی مدل AND GF-600 با دقت یک‌هزارم گرم اندازه-گیری شد.

پارامترهای رشد گیاه مانند تعداد برگ در بوته، ارتفاع بوته و حجم ریشه اندازه‌گیری شد. طول با یک خط کش ساده و حجم ریشه با یک استوانه مدرج اندازه‌گیری شد. تغییر حجم ایجاد شده در سطح آب داخل استوانه به عنوان حجم ریشه تعیین شد. عملکرد بوته شامل وزن میوه‌های تولید شده در بوته در گیاهان تیمارشده و شاهد به طور جداگانه ثبت شد. از هر بوته پنج برگ به طور تصادفی جدا شد و سپس در پاکت کاغذی قرار گرفتند. برگ‌ها به مدت ۷۲ ساعت در آون با دمای ۶۰ درجه سلسیوس قرار داده شدند. سپس برخی از عناصر کم و پر مصرف در برگ‌های خشک گیاهان تیمارشده و شاهد توسط دستگاه ICP-MS (طیف سنجی جرمی- پلاسمای جفت شده القایی) اندازه‌گیری شدند (Qing-hua *et al*., 2012).

پس از پایان دوره لاروی، با جداکردن تصادفی تعداد پنج عدد از برگ‌های گیاهان تیمار شده با قارچ تریکودرما و شاهد از هر دو گروه گیاهان مورد تغذیه کرم میوه گوجه‌فرنگی و بدون آفت، بر اساس

روش‌های متداول استاندارد اسپکتروفوتومتری و فرمول‌های مربوطه، مقادیر پرولین (Bates *et al.*, 1973)، پراکسید هیدروژن (Velikova *et al.*, 2000) و آنزیم‌های پلی‌فنل اکسیداز (Wesche-Ebeling *et al.*, 1990) و کاتالاز (Chance *et al.*, 1995) مورد محاسبه قرار گرفتند.



شکل ۱- میانگین (± خطای استاندارد) نرخ رشد نسبی لاروی (درصد) روی برگ و میوه، طول دوره لاروی (روز)، درصد مرگ‌ومیر لاروی، زادآوری و باروری *Helicoverpa armigera* پرورش‌یافته روی گیاهان گوجه‌فرنگی تیمارشده با *Trichoderma harizianum* T22 و شاهد

Figure 1- Mean (±SE) of larval relative growth rate (%) on leaf and fruit, larval developmental time (day) and larval mortality (%) and fecundity and fertility of *Helicoverpa armigera* reared on tomato plants treated by *Trichoderma harizianum* strain T22 and control

تجزیه آماری داده‌ها

داده‌های آزمایشی پس از نرمال‌سازی بر اساس لگاریتم پایه ۱۰، با استفاده نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ مورد تجزیه آماری قرار گرفتند. داده‌های مربوط به پارامترهای مختلف زیستی حشره از آزمون مقایسه میانگین t استفاده شد. از آنجایی‌که تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به میزان عناصر غذایی، پارامترهای رشدی و بیوشیمیایی گیاه از طرح فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی استفاده شد. لذا از واریانس یک طرفه برای آنالیز آن‌ها استفاده شد و میانگین‌ها با استفاده آزمون توکی مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج

نتایج ارزیابی پارامترهای زیستی حشره نشان داد که بین پارامترهای لارو *H. armigera* در گیاهان تیمارشده و شاهد تفاوت معنی‌داری وجود دارد. طول دوره لاروی و درصد مرگ و میر لاروها روی گیاهان تیمارشده به طور معنی‌داری بیشتر از گیاهان شاهد بود. نرخ رشد نسبی لارو (روی برگ و میوه)، باروری و زادآوری حشرات ماده پرورش‌یافته روی گیاهان تیمارشده به طور معنی‌داری کمتر از گیاهان شاهد بود (شکل ۱).

نتایج نشان داد که پارامترهای رشدی گیاه شامل تعداد برگ در بوته ($F_{1,76}$=۷/۰۸ ; P= ۰/۰۰۱)، حجم ریشه ($F_{1,76}$=۸/۳۴ ; P= ۰/۰۰۱) و عملکرد بوته (وزن میوه در بوته) ($F_{1,76}$=۵/۳۹ ; P= ۰/۰۳) در گیاهان تیمار شده به طور معنی‌داری بیشتر از گیاهان شاهد بود، اما طول بوته تفاوت معنی‌داری نداشت ($F_{1,76}$=۲/۹۸ ; P= ۰/۰۸) در حالی که این صفات در گیاهان تیمارشده و شاهد، با حضور لارو آفت و بدون آفت تفاوت معنی‌داری نداشتند (جدول ۱).

جدول ۱- پارامترهای رشدی و عملکرد (وزن میوه در بوته) (میانگین± خطای استاندارد) گیاهان گوجه‌فرنگی تیمار شده با *Trichoderma harizianum* T22 و شاهد تحت تغذیه لارو *Helicoverpa armigera*

Table 1- Growth parameters and yield (weight and number of fruits per plant) (Mean±SE) of tomato plants treated by *Trichoderma harizianum* strain T22 and control under feeding of *Helicoverpa armigera* larvae

تیمارهای آزمایشی Treatments		طول بوته Length of plant (cm)	تعداد برگ در بوته Number of leaves per plant	حجم ریشه Root mass (cm^3)	وزن میوه در بوته Weight of fruits per plant (g)
		Mean±SE			
گیاهان تیمار شده Treated plants	با حضورآفت With pest	31.3±2.8 a	14.8±1.2 a	9.5±0.9 a	39.5±3.6 a
	بدون حضورآفت Without pest	32.1±3.1 a	14.6±1.6 a	9.7±0.9 a	43.4±4.2 a
گیاهان تیمار نشده Untreated plants	با حضورآفت With pest	29.4±2.4 a	10.8±1.6 b	7.4±0.7 b	30.8±2.8 b
	بدون حضورآفت Without pest	30.8±3.4 a	11.6±2.1 b	7.5±0.8 b	32.9±3.8 b

وجود حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها بر اساس آزمون توکی در سطح ۵ درصد است.

The presence of similar letters in each column indicates that there is no significant difference between the means based on Tukey test at the level of 5%.

نتایج دستگاه ICP-MS در ثبت مقادیر برخی عناصر پر مصرف پتاسیم ($F_{1,76}$=۱۰/۵۵ ; P= ۰/۰۰۱) و فسفر ($F_{1,76}$=۹/۱۲ ; P= ۰/۰۰۱) و برخی عناصر ریز مغذی (منیزیم، کلسیم، روی، مس و آهن) نشان داد که در گیاهان تیمارشده، قارچ تریکودرما به جذب بیشتر عناصر غذایی از طریق ریشه گیاهان کمک کرده است (جدول ۲).

مقادیر پراکسید هیدروژن ($F_{1,76}$=۵/۹۱ ; P= ۰/۰۰۱) و پرولین ($F_{1,76}$=۸/۹۶ ; P= ۰/۰۰۱) در برگ گیاهان تیمارشده به طور معنی‌داری بیشتر از گیاهان شاهد بود. همچنین مقدار این دو ماده در گیاهان تیمارشده (بدون آفت) به طور معنی‌داری بیشتر از گیاهان شاهد بود. کمترین مقدار این ماده دفاعی گیاهی در گیاهان شاهد بدون آفت و بیشترین مقدار مربوط به گیاهان تیمارشده با حضور آفت بود (شکل‌های ۲ و ۳).

نتایج مشابهی در مورد فعالیت دو آنزیم اکسیداسیون گیاه، شامل پلی فنل اکسیداز ($F_{1,76}$=۹/۷۶ ; P= ۰/۰۰۱) و کاتالاز (۰/۰۰۱ ; ... تفاوت معنی‌داری بین میزان فعالیت کاتالاز در گیاهان تیمار شده با

وجود آفت و بدون حضور آفت وجود نداشت (شکل ۵).

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که توانایی گیاه گوجه‌فرنگی از هر دو جنبه جذب بیشتر عناصر غذایی و افزایش رشد رویشی و زایشی آن و نیز افزایش عملکرد سیستم دفاعی گیاه در عکس‌العمل به تغذیه کرم میوه گوجه‌فرنگی، به طور مثبت تحت تاثیر تیمار با قارچ تریکودرما سویه *T. harizianum* T22 بود. در این پژوهش میزان تغذیه لارو *H. armigera* روی گیاهان گوجه‌فرنگی تیمارشده توسط *T. harizianum* T22، کمتر و از سوی دیگر مرگ و میر و طول دوره‌ی لاروی بیشتر از لاروهای تغذیه‌شده از گیاهان شاهد بود.

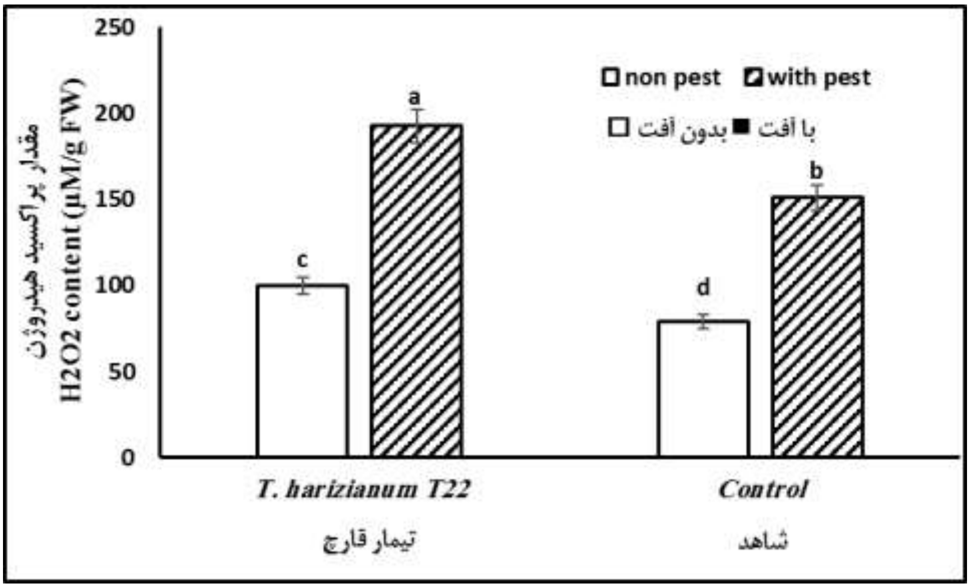
جدول ۲- عناصر پرمصرف و کم مصرف (میانگین±خطای استاندارد) در برگ گیاهان گوجه‌فرنگی تیمار شده با *Trichoderma harizianum* T22 و شاهد تحت تغذیه لارو *Helicoverpa armigera*

Table 2- Macro- and micro- elements (Mean±SE) in leaves of tomato plants treated by *Trichoderma harizianum*strain T22 and control under feeding of *Helicoverpa armigera* larvae

تیمارهای آزمایشی Treatments		فسفر P	پتاسیم K	منیزیم Mg	کلسیم Ca	روی Zn	مس Cu	آهن Fe
		Mean±SE						
گیاهان تیمار شده Treated plants	با حضورآفت With pest	2145±123 a	21930±546 ab	14306±233 a	30589±646 a	94.0±12.1 a	10.67±1.1 a	416±33 a
	بدون حضورآفت Without pest	2213±162 a	22077±582 a	14595±261 a	31241±773 a	87.9±14.2 ab	11.23±1.2 a	439±38 a
گیاهان تیمار نشده Untreated plants	با حضورآفت With pest	1813±92 b	19969± 498 b	11397± 176 b	22914±558 b	90.9±10.3 ab	6.89±0.7 b	277±25 b
	بدون حضورآفت Without pest	1903±103 b	20345± 513 b	11597± 199 b	23755±609 b	94.9±13.3 a	7.07±0.8 b	302±30 b

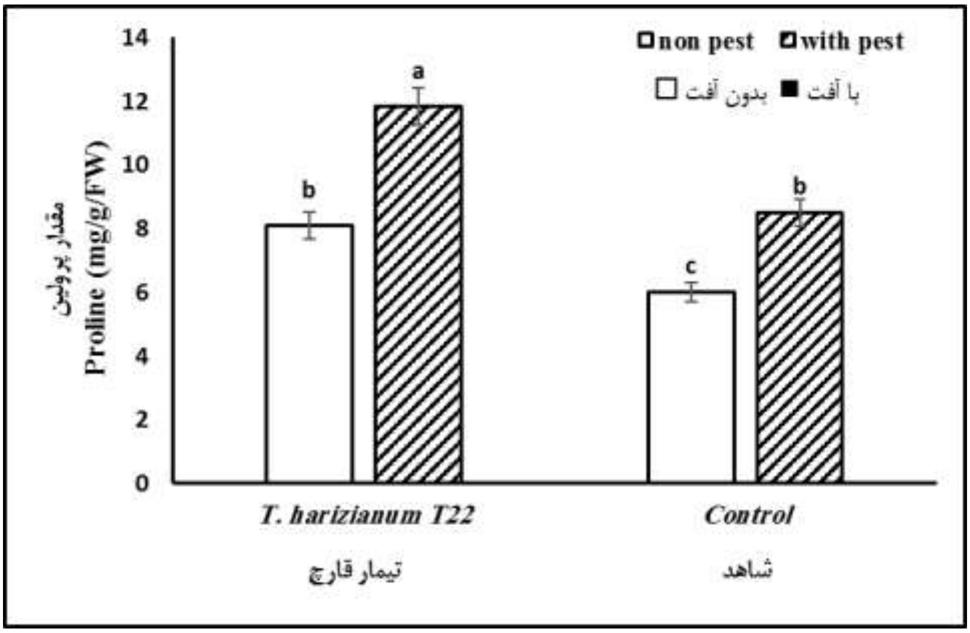
وجود حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها بر اساس آزمون توکی در سطح ۵ درصد است.

The presence of similar letters in each column indicates that there is no significant difference between the means based on Tukey test at the level of 5%.



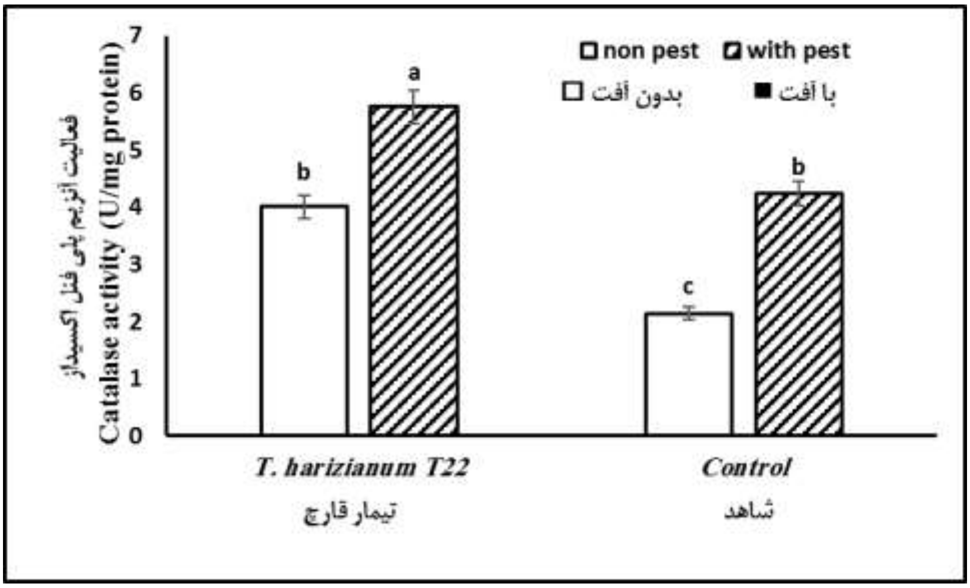
شکل ۲- مقدار پراکسید هیدروژن (H_2O_2) (میانگین±خطای معیار) در گیاهان گوجه‌فرنگی تیمار شده با *Trichoderma harizianum* T22 و شاهد تحت تغذیه لارو *Helicoverpa armigera*

Figure 2- Amount of hydrogen peroxide (H_2O_2) (Mean±SE) in tomato plants treated by *Trichoderma harizianum* strain T22 and control under feeding of *Helicoverpaarmigera* larvae



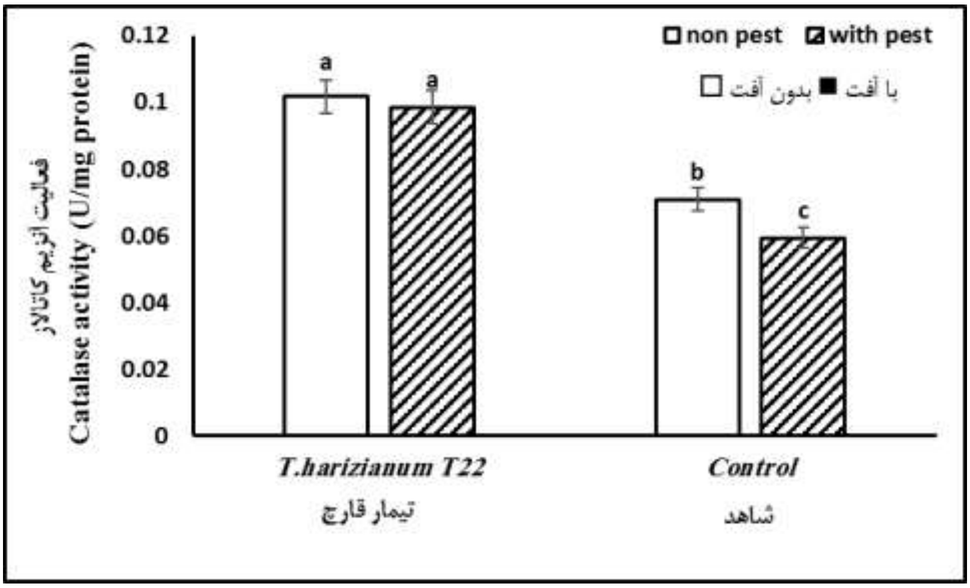
شکل ۳- مقدار پرولین (میانگین±خطای معیار) در گیاهان گوجه‌فرنگی تیمار شده با *Trichoderma harizianum* T22 و شاهد تحت تغذیه لارو *Helicoverpa armigera*

Figure 3- Amount of proline (Mean±SE) in tomato plants treated by *Trichoderma harizianum* strain T22 and control under feeding of *Helicoverpa armigera* larvae



شکل ۴- فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز (PPO) (میانگین±خطای معیار) در گیاهان گوجه‌فرنگی تیمار شده با *Trichoderma harizianum* T22 و شاهد تحت تغذیه لارو *Helicoverpa armigera*

Figure 4- Polyphenol oxidase (PPO) enzyme activity (Mean±SE) in tomato plants treated by *Trichoderma harizianum* strain T22 and control under feeding of *Helicoverpa armigera* larvae



شکل ۵- فعالیت آنزیم کاتالاز (میانگین±خطای معیار) در گیاهان گوجه‌فرنگی تیمار شده با *Trichoderma harizianum* T22 و شاهد تحت تغذیه لارو *Helicoverpa armigera*

Figure 5- Catalase enzyme activity (Mean±SE) in tomato plants treated by *Trichoderma harizianum* strain T22 and control under feeding of *Helicoverpa armigera* larvae

همچنین، باروری و زادآوری حشرات ماده *H. armigera* که لاروهای آن‌ها روی گیاهان تیمارشده با *T. harizianum* T22 پرورش داده شدند به طور معنی‌داری کمتر از حشرات تغذیه شده از گیاهان شاهد بود که می‌تواند نشان‌دهنده‌ی پایین‌بودن کیفیت گیاهان تیمارشده با قارچ باشد. این نتایج بیانگر آن است که استفاده از این سویه قارچ سبب کاهش کیفیت تغذیه‌ای گیاهان برای حشره شده است. بنابراین، کیفیت پایین غذا باعث کاهش میزان زیست توده لاروها و افزایش درصد مرگ و میر آن‌ها روی گیاهان تیمارشده با قارچ تریکودرما شده است. در نهایت، میزان تخم‌ریزی و درصد تفریخ تخم در ماده‌های تغذیه‌شده از گیاهان تیمارشده با قارچ کمتر از حشرات تغذیه‌شده با گیاهان شاهد بود. در مطالعه‌ای مشابه مطالعه حاضر و با مقادیر مشابه قارچ به کاربرده شده، آلینک و همکاران (Alinc *et al.*, 2021) با مطالعه تاثیر قارچ *T. harzianum* T22 روی برخی پارامترهای زیستی و تغذیه‌ای از جمله نرخ رشد نسبی پوره‌های سن سبز، *Nezara viridula* L. ثابت کردند که تلقیح ریشه گیاهان گوجه فرنگی با این سویه قارچ تریکودرما سبب کاهش تغذیه و کاهش نرخ رشد نسبی پوره ها شده و همچنین از نظر مولکولی گیاه را تحت تاثیر قرار داده است و تولید اسید جاسمونیک افزایش یافته است. در مطالعه‌ای مختلفی تاثیر منفی انواع سویه‌های قارچ‌های تریکودرما روی شاخص‌های زیستی برخی حشرات گزارش شده است. در مطالعه‌ای محققین (Battaglia *et al.*, 2013) تأثیر سویه MK1 قارچ تریکودرما گونه *Trichoderma longibrachiatum* روی دفاع مستقیم و غیرمستقیم گیاه گوجه‌فرنگی نسبت به شته سیب‌زمینی، *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas)، ارزیابی نموده‌اند. نتایج نشان داد که شاخص رشد جمعیت شته‌های پرورش‌یافته روی گیاهان تیمار شده با قارچ در مقایسه با گیاهان شاهد کاهش یافت. از سوی دیگر، میزان جذب زنبور پارازیتوئید شته، *Aphidius ervi* (Hym.: Braconidae) Haliday و سن شکارچی شته، *Macrolophus* (Hem.: Miridae) *pygmaeus* Rambur افزایش یافت.

در تحقیق دیگری مشخص شد که کاربرد مستقیم محلول شامل کنیدی این سویه قارچ (*T. harzianum* T22) سبب مرگ و میر پوره‌ها (بین ۶۰ تا ۷۵ درصد) و بالغین (بین ۵۷ تا ۷۲ درصد) شته پشمی نیشکر *Ceratovacuna lanigera* Zehntner در اثر استفاده از غلظت ۱۰[۸] کنیدی در میلی‌لیتر قارچ شده است (Battaglia *et al.*, 2013). نتایج این تحقیق مشابه تحقیق حاضر در ایجاد مرگ و میر در حشرات آفت است. در تحقیق حاضر نیز استفاده از غلظت ۱۰[۷] کنیدی این سویه قارچ در گیاه سبب مرگ و میر حدود ۲۵ درصد لاروهای *H. armigera* شد. القای اسید جاسمونیک و سایر ترکیبات دفاعی در اثر استفاده از قارچ *T. harzianum* T22 در گیاه گوجه فرنگی آلوده به شته سیب‌زمینی *Macrosiphum euphorbiae* توسط کاپولا و همکاران (Coppola *et al.*, 2019) مشاهده شده است. این محققین نشان دادند که استفاده از این سویه قارچ تریکودرما سبب کاهش جمعیت شته مذکور شد. همچنین در مطالعه‌ای دیگر عظیمی و همکاران با مطالعه تاثیر سویه Tr6 این قارچ مشاهده کردند که جمعیت شته سیاه باقلا و نرخ ذاتی رشد

جمعیت آن کاهش محسوسی روی گیاهان باقلای تیمار شده نسبت به گیاهان تیمار نشده داشته است (Azimi *et al*., 2020).

در مطالعه حاضر مشخص شد که میزان پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و اسید آمینه پرولین در برگ گیاهان تیمارشده به طور معنی‌داری بیشتر از گیاهان شاهد بود. همچنین مقدار این دو ماده در گیاهان تیمارشده (بدون آفت) به طور معنی‌داری بیشتر از گیاهان شاهد بود. از دلایل این امر می‌توان به تحریک سیستم دفاعی گیاه توسط قارچ اشاره نمود که به تولید بیشتر مواد دفاعی مانند پراکسید هیدروژن و پرولین منتج شده است و در نتیجه تاثیر مخرب روی فیزیولوژی حشره می‌گذارد. گیاهان آسیب دیده محرک‌هایی تولید می‌کنند که با بیان ژن‌های مربوطه تولید ترکیبات ثانوی فرار و غیر فرار مانند ترکیبات فنلی، هورمون‌های گیاهی (اسیدهای جاسمونیک و سالیسیلیک)، پراکسید هیدروژن، مهار کننده‌های پروتئیناز و اسیدهای آمینه دخیل در دفاع گیاهی (مانند پرولین) را فعال می‌کنند (War *et al*., 2012). از آنجایی‌که تولید پراکسید هیدروژن و اسید آمینه پرولین در مسیر متابولیک یکسانی می‌باشند، لذا تولید این دو ترکیب دفاعی در گیاهان تیمارشده افزایش قابل توجهی نسبت به شاهد داشته است. بنابراین، تجمع سریع پراکسید هیدروژن یک رویداد اولیه پس از آسیب گیاهخواری است که نقش‌های متعددی را در دفاع از گیاهان در جهت مقابله با گیاهخواران ایفا می‌کند (Bi and Felton, 1995; Zhang *et al*., 2022). بنابراین، این موضوع در مقایسه مقادیر این دو ترکیب در گیاهانی که تحت تغذیه لارو حشره آفت نبوده‌اند هم کاملاً مشخص است که وجود این قارچ سبب تحریک سیستم دفاعی گیاه شده است. در گیاهان تحت تغذیه لارو آفت این مقادیر در اثر آسیب وارده به بافت میوه گیاه گوجه‌فرنگی به طور محسوسی بیشتر شده است که در شرایط تنش، در بسیاری از گونه‌های گیاهی اسید آمینه پرولین به عنوان یک پاسخ سازگار به شرایط نامطلوب تجمع می‌یابد (War *et al*., 2012).

در مطالعه حاضر مشخص شد که فعالیت آنزیم‌های اکسیداسیون گیاهان تیمار شده (بدون آفت و با آفت) در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش یافت. اکسیداسیون فنل‌های کاتالیز شده توسط پلی فنل اکسیداز (PPO) و کاتالاز (CAT) یک مکانیسم دفاعی بالقوه در گیاهان در برابر حشرات گیاهخوار است. این آنزیم‌ها در گیاهان نقش اصلی را در دفاع گیاه در برابر تنش‌های زیستی و غیر زیستی ایفا می‌کنند. فعالیت این آنزیم‌ها همچنین با مقاومت در برابر تغذیه حشرات جونده و مکنده همراه است. علاوه بر این، این آنزیم‌ها مانند سایر ژن‌های دفاعی، اغلب در پاسخ به مولکول‌های سیگنال‌دهنده و آسیب‌های ناشی از زخم مکانیکی، پاتوژن‌ها یا حشرات آفت در گونه‌های مختلف گیاهی به طور متفاوت القا می‌شوند (Gull et al., 2019).

در پژوهش حاضر مشخص شد که شاخص‌های رشد گیاه و عملکرد (وزن میوه‌ها) و همچنین مقادیر عناصر کم مصرف و پر مصرف در برگ‌های گیاهان تیمارشده به‌طور معنی‌داری بیشتر از گیاهان تیمار نشده (شاهد) بود. همانطور که از نتایج این مطالعه استنباط می‌شود، استفاده از *T. harizianum* T22 علاوه بر جذب بیشتر و بهتر برخی از مواد مغذی، تأثیر غیرمستقیم بر رشد سیستم ریشه گیاه گوجه‌فرنگی داشته است. متقابلاً، حجم بیشتر ریشه باعث جذب بیشتر برخی عناصر ریز مانند منیزیم، روی، آهن و مس و سایر آنیون‌ها و کاتیون‌های مفید مانند یون‌های فسفات و سولفات برای گیاه می‌شود. این فعل و انفعالات باعث افزایش سطح سبز گیاهی مانند تعداد برگ و همچنین اندام‌های زایشی (میوه) شده است در نتیجه مشخص می‌شود که این سویه قارچ تریکودرما سبب رشد رویشی وعملکرد گیاهان تیمار شده نسبت به شاهد شده است.

از نتایج این تحقیق اینگونه استنباط می‌شود که استفاده از فرآورده زیستی *T .harizianum* T22 به جذب بیشتر مواد مغذی به گیاه کمک کرده و باعث تحریک و تقویت سیستم دفاعی گیاه در برابر حمله کرم میوه گوجه‌فرنگی شد. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که استفاده از موجودات زنده مفید خاک برای تقویت دفاع گیاه در جهت حفاظت از محصول، یک رهیافت امیدوارکننده برای کنترل آفات به منظور کاهش کاربرد آفت‌کش‌ها می‌باشد.

سپاسگزاری

بدین وسیله مولفین از دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته و همچنین سازمان جهاد کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمان در حمایت مالی از این پژوهش قدردانی می‌نمایند.

منابع

1. Abdul-Wahid, O.A., & Elbanna, S.M. (2012). Evaluation of the insecticidal activity of *Fusarium solani* and *Trichoderma harzianum* against cockroaches; *Periplaneta americana*. *African Journal of Microbiology Research* 6: 1024-1032. http://doi.org/10.5897/Agmeri11.300.
2. Alinc, T., Cusumano, A., Peri, E., Torta, L., & Colazza, S. (2021). *Trichoderma harzianum* strain T22 modulates direct defense of tomato plants in response to *Nezara viridula* feeding activity. *Journal of Chemical Ecology* 47: 455-462. http://doi.org/10.1007/s10886-021-01260-3.
3. Amini, S., Ghobadi, S., & Yamchi, A. (2015). Proline accumulation and osmotic stress: an overview of P5CS gene

in plants. *Journal of plant Molecular Breeding* 3: 44-5. http://doi.org/10.22058/JPMB.2015.17022.

4. Azimi, S., Saedeh, S., & Alizadeh, A. (2020). Effect of bean plant treatment with *Trichoderma harzianum* TR6 on the biology of bean aphid *Aphis fabae*. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 10: 1-16. (In Persian with English Abstract)
5. Bates, L.S., Waldren, R.P., & Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.
6. Battaglia, D., Bossi, S., Cascone, P., Digilio, M.C., Prieto, J.D., Fanti, P., Guerrieri, E., Iodice, L., Lingua, G., & Lorito, M. (2013). Tomato below ground-above ground interactions: *Trichoderma longibrachiatum* affects the performance of *Macrosiphum euphorbiae* and its natural antagonists. *Molecular Plant Microbe Interaction* 26: 1249–1256.
7. Bi, J.L., & Felton, G.W. (1995). Foliar oxidative stress and insect herbivory: Primary compounds, secondary metabolites, and reactive oxygen species as components of induced resistance. *Journal of Chemical Ecology* 21: 1511–1530.
8. Cardoza, Y.J., Klepzig, K.D., & Raffa, K.F. (2006). Bacteria in oral secretions of an endophytic insect inhibit antagonistic fungi. *Ecological Entomology* 31: 636-645.
9. Chance, B., & Maehly, A.C. (1955) Assay of Catalase and Peroxidase. *Methods in Enzymology* 2: 764-775.
10. Coppola, M., Cascone, P., Di Lelio, I., Woo, SL., Lorito, M., Rao, R., Pennacchio, F., Guerrieri, E., & Digilio, M.C. (2019). *Trichoderma atroviride* P1 colonization of tomato plants enhances both direct and indirect defense barriers against insects. *Front Physiology* 10: 1–12.
11. Dicke, M., & Hilker, M. (2003). Induced plant defences: from molecular biology to evolutionary ecology. *Basic Appllied Ecology* 4: 3–14.
12. Fitt, G.P., Zalucki, M.P., & Twine, P. (1989). Temporal and spatial patterns in pheromone-trap catches of *Helicoverpa* spp. (Lepidoptera: Noctuidae) in cotton-growing areas of Australia. *Bulletin of Entomological Research* 79: 145-161.
13. Gull, A., Lone, A.A., & Wani, N. (2019). *Biotic and Abiotic Stresses in Plants*. http://doi.org/10.5772/intechopen.85832.
14. Harman, G.E., Howell, C.R., Viterbo, A., Chet, I., & Lorito, M. (2004). *Trichoderma* species—opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature reviews Microbiology* 2: 43-56.
15. Kessler, A., & Baldwin, I.T. (2001). Defensive function of herbivore-induced plant volatile emissions in nature. *Science* 291: 2141–2144.
16. Mazzi, D., & Dorn, S. 2012. Movement of insect pests in agricultural landscapes. *Annals of Applied Biology* 160: 97-113. http://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2012.00533.x.
17. Ousley, M.A., Lynch, J.M., & Whipps, J.M. (1994). Potential of *Trichoderma* spp. as consistent plant growth stimulators. *Biology and Fertility of Soils* 17: 85-90.
18. Qing-hua, Y., Li, Y., Qing, W., & Xiao-Qin, M. (2012). Determination of major and trace elements in six herbal drugs for relieving heat and toxicity by ICP-AES with microwave digestion. *Journal of Saudi Chemical Society* 16: 287-290.
19. Santamarina-Fojo, S., Peterson, K., Knapper, C., Qiu, Y., Freeman, L., Cheng, J.F., & Brewer, H.B. (2000). Complete genomic sequence of the human ABCA1 gene: analysis of the human and mouse ATP-binding cassette A promoter. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97: 7987-7992.
20. Smith, R.J., Lee, E.C., Kimberling, W.J., Daiger, S.P., Pelias, M.Z., Keats, B.J., & Hejtmancik, J.F. (1992). Localization of two genes for Usher syndrome type I to chromosome 11. *Genomics* 14: 995-1002.
21. Tefera, T., & Vidal, S. (2009). Effect of inoculation method and plant growth medium on endophytic colonization of sorghum by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *BioControl* 54: 663-669. http://doi.org/10.1007/s10526-009-9216-y.
22. Velikova, V., Yordanov, I., & Edreva, A. (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain treated bean plants: Protective role of exogenous polyamines. *Plant Science* 151: 59-66.
23. Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E.L., Marra, R., Wooa, S.L., & Lorito, M. (2008). *Trichoderma*-plant- pathogen interactions. *Soil Biology and Biochemistry* 40: 1-10. http://doi.org/10.1007/s12088-012-0308-5.
24. War, A.R., Paulraj, M.G., Ahmad, T., Buhroo, A.A., Hussain, B., Ignacimuthu, S., & Sharma, H.C. (2012). Mechanisms of plant defense against insect herbivores. *Plant Signal Behavior* 7: 1306-1320. http://doi.org/10.4161/psb.21663.
25. Wesche-Ebeling, P., & Montgomery, M.W. (1990). Strawberry polyphenoloxidase: Extraction and partial characterization. *Journal of Food Science* 55: 1320–1324.
26. Windham, MT., Elad, Y., & Baker, R. (1986). Mechanism for increased plant growth induced by *Trichoderma* spp. *Phytopathology* 76: 518–521.

27. Zalucki, M.P., Daglish, G., Firempong, S., & Twine, P. (1986). The biology and ecology of *Heliothis armigera* (Hubner) and *Heliothis punctigera* Wallengren (Lepidoptera, Noctuidae) in Australia-What do we know. *Australian Journal of Zoology* 34: 779-814.
28. Zhang, Y., Zhou, H., Tang, Y., Luo, Y., & Zhang, Z. (2022). Hydrogen peroxide regulated salicylic acid– and jasmonic acid–dependent systemic defenses in tomato seedlings. *Food Science and Technology* 42: e54920. http://doi.org/10.1590/fst.54920.